

Nicorandil を用いた移植肺再灌流障害予防 に関する実験的研究

松 崎 貴 史

札幌医科大学医学部外科学第2講座 (主任 小松作蔵 教授)

Experimental Studies on the Effects of Nicorandil on Reperfusion Injury in Warm Ischemic Lung

Takashi MATSUZAKI

*Second Department of Surgery, Sapporo Medical University School of Medicine,
(Chief : Prof. S. KOMATSU)*

ABSTRACT The reimplantation response is often an early critical complication after lung transplantation. We have performed a series of experiments using a warm ischemic lung model to evaluate the protective effects of the K^+ channel opener Nicorandil against reperfusion injury of the lung.

Sixteen mongrel dogs were subjected to median sternotomy, complete left hilar stripping and warm ischemia of the left lung and divided into two groups. Group A ($n=8$) underwent hilar stripping and was kept in a warm ischemic condition for 90 min; group B ($n=8$) underwent the same procedure as Group A, but was administered Nicorandil (0.5 mg/kg) before reperfusion.

To evaluate the function of the left lung, arterial blood gas, aortic pressure, pulmonary arterial pressure, cardiac output, lung compliance, left extravascular lung water (lt-EVLW) and left pulmonary arteriolar resistance were measured during transient contralateral pulmonary arterial occlusion before the operation and 15 min, 60 min and 120 min after reperfusion. Lt-EVLW was measured by thermal sodium double indicator dilution.

The results obtained were as follows.

1. PaO_2 was 427.1 ± 62.4 mmHg with 100% F_{iO_2} 120 min after reperfusion in group A, whereas it was maintained at 569 ± 23.6 mmHg in group B; $A-aDO_2$ after the same time period was 103.5 ± 21.9 mmHg in group B, which was significantly better than that of group A at 248.2 ± 66.3 mmHg.

2. The values of lt-EVLW in group A gradually increased for 120 min after reperfusion, though there was almost no change in group B.

3. The left pulmonary arteriolar resistance remained low during the experiments in group B, but it increased significantly in group A 120 min after reperfusion.

4. Histologically, group B lungs clearly appeared in better condition than group A lungs.

Through these experiments, the following conclusions were reached. Nicorandil provides significant protection against the reimplantation response after lung transplantation. Its action appears to depend on vasodilation by the hyperpolarization of cell membranes and inhibition of large influx of calcium ion; the role of Nicorandil appears similar to that of Endothelium Derived Releasing Factor.

(Received January 11, 1994 and accepted January 26, 1994)

Key words: K^+ channel opener (KCO), Reimplantation response, Lung transplantation, Extravascular lung water (EVLW), Warm ischemic lung model

1 緒 言

1983年 Cooper *et al*¹⁾ によって、初めて長期生存例が報告されて以来、肺移植は末期呼吸不全患者に対する根治的治療法として症例数が急増しつつある²⁾。しかし、肺保存法、気管支吻合法、拒絶反応の抑制および早期診断法など、解決しなければならない問題が山積しているのも事実である。とくに移植後早期に起こる reimplantation response と呼ばれる一過性の肺水腫は、呼吸を移植肺に依存している患者にとっては致命的であり、その原因としてリンパ流および気管支動脈の途絶、除神経、吻合部狭窄²⁾³⁾、chemical mediator の関与⁴⁾ などが考えられている。

最近この原因の一つとして虚血後血流再開に伴う再灌流障害が注目され、これは虚血によって組織中のアンドーシスが進行し、ATP の産生が減少するうえに、血管内皮細胞から産生されたトロンボキサン A_2 、活性酸素⁵⁾⁶⁾ などにより細胞膜のイオン輸送が障害され、血流再開後、細胞内に大量に流出したカルシウムイオンが細胞膜とミトコンドリア等の細胞内小器官を破壊することによって起こると考えられる。

1980年代より K^+ チャンネルオープナー (KCO) として注目されている Nicorandil は、 K^+ チャンネルを開口させることにより細胞膜を過分極させ、カルシウムイオンの流入を抑制する働きのあることがわかっている⁷⁾。今回、著者は、実験的に温阻血肺を作成し、移植肺の再灌流障害による一過性の肺水腫防止を目的として、Nicorandil の有効性につき検討した。

2 実験方法

2.1 対象と方法

実験動物として雑種成犬 16 頭 (8 kg~22 kg) を用いた。塩酸ケタミン 20 mg/kg を筋注後、チオペンタール・ナトリウム 25 mg/kg を静注し、気管内挿管し、Harvard respirator (model 607, Harvard apparatus) に接続し、 FiO_2 : 0.6、一回換気量 20 ml/kg、呼吸回数 16~20 回、REEP 5 cmH₂O にて調節呼吸とした。麻酔深度を一定に保つためにチオペンタール・ナトリウム 25 mg/kg/h を右大腿静脈より持続点滴した。

右外頸静脈から 5F Swan-Ganz カテーテル (Viggo-Spectramed 社製) を挿入して主肺動脈内に留置し、ついで右大腿動脈より 7F introducer (Cordis 社製) を挿入し、それを通して肺血管外水分量測定用カテーテル (後述) を腹部大動脈内に留置した。心電図は四肢針電極で、動脈圧は大動脈内に挿入した 7F introducer

(Cordis 社製) を多用途監視装置 (フクダ電子) に接続し、連続モニターした。

以上の準備下に、胸骨正中切開にて開胸し、左右肺動脈を露出、テーピングした後左肺を翻転し左肺門の hilar stripping を行い、ついで左右気管支にテーピングを行い、閉塞試験に備えた。また、左心耳より 5F パーマンカテーテル (Arrow 社製) を左房内に留置し、左房圧を測定した (Fig. 1)。その後、次項に述べる左肺温阻血を 90 分間行った後、再灌流させた。

実験終了後左肺を摘出、ホルマリン固定し、Hematoxylin-Eosin (H-E) 染色により標本を作成し

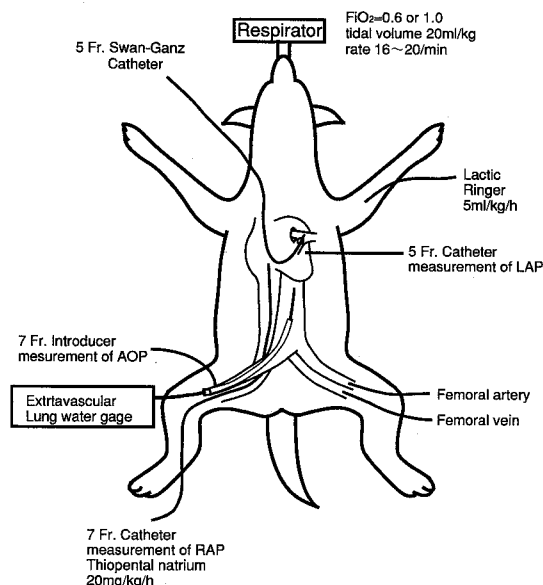


Fig. 1 Experimental set up for measurement of pressure and EVLW

た。

2.2 実験手順ならびに測定方法

左肺 hilar stripping の後、呼吸および循環動態を安定させてから測定を行なった。

ヘパリン 100 U/kg を静注した後、右主肺動脈、右主気管支を遮断鉗子にて 5 分間遮断してから、肺動脈圧、大動脈圧、左房圧、心拍出量、肺血管外水分量、気道内圧、LDH および ACE を測定し、この値を control 値 (=pre 値) とした。その後、右主肺動脈、右主気管支の遮断を解除し、ついで左主肺動脈、左主気管支、左肺静脈左房流入部を順次遮断し、90 分間温阻血状態とした。温阻血時の膨張圧は 5 cmH₂O に設定した。

90 分間の左肺温阻血後、遮断を解除し、再灌流開始後 15 分、60 分、120 分時に右主肺動脈、右主気管支を遮断し、5 分後に前記の項目を測定した。なお、動

脈血ガス分析は、pre 値、再灌流後ともに $\text{FiO}_2=1.0$ にて 5 分間換気した後測定した (Fig. 2)。

なお、Nicorandil 投与の有無により以下の 2 群に分類した。

A 群: Nicorandil 非投与群 (n=8)

左肺温阻血を 90 分間施行し、その後再灌流を開始した群

B 群: Nicorandil 投与群 (n=8)

A 群と同様に温阻血 90 分施行後、再灌流直前に Nicorandil (Fig. 3) を生理食塩水に溶解し、

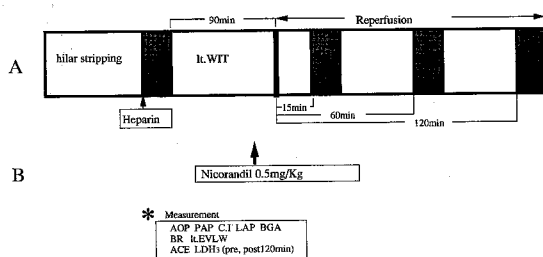
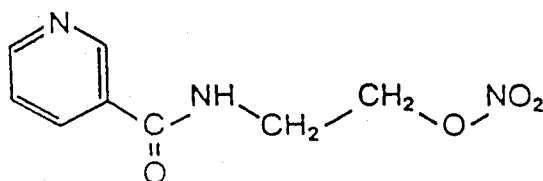


Fig. 2 Experimental protocol

The measurement was performed as follows

1. Before warm ischemia of lt. lung
2. 15 min after reperfusion
3. 60 min after reperfusion
4. 120 min after reperfusion

AOP: aortic pressure mPAP: mean pulmonary artery pressure CI: cardiac index mLAP: mean left atrial pressure BGA: blood gas analysis BR: bronchial resistance lt. EVLW: left extravascular lung water ACE: angiotensin converting enzyme lt. WIT: warm ischemia time of left lung



Nicorandil

Fig. 3 Chemical structure of Nicorandil

Nicorandil relaxes vascular smooth muscles by enhancement of potassium ion efflux and subsequent hyperpolarization of the smooth muscle membrane.

0.5 mg/kg 主肺動脈内に投与した群

2・2・1 左肺血管外水分量の測定

肺血管外水分量 (extravascular lung water: EVLW) の測定には、ナトリウムを非拡散性指示薬、熱を拡散性指示薬とする二重指示薬希釈法 (熱-ナトリ

ウム法⁸⁾) を用いた。EVLW 測定用カテーテルには、5F Surgitherm Balloonless Thermal Dilution カテーテル (ELECTRO CATHETER 社製) を用いた。また、0℃、3%の食塩水 3 ml を主肺動脈内に急速に注入し、連結した Lung Water Computer MTV 1100 (日本光電社製) にて、次式により EVLW を算出した。

$$\text{EVLW} = \text{COE} \times (\text{MTT}_1 - \text{MTT}_2) / 60$$

COE: EVLW 測定用カテーテルで測定した熱希釈法による心拍出量 (1/min)

MTT_1 : 拡散性指示薬の平均循環時間 (秒)

MTT_2 : 非拡散性指示薬の平均循環時間 (秒)

測定にあたっては、一つの実験操作につき 3 回以上行ない、これらの測定値の平均値を測定結果とした。

2・2・2 ACE, LDH₃ 分画の測定

左心房に挿入したカテーテルより採血し、3000 rpm にて 10 分間遠沈した後血清を分離した。ACE カラー (富士レビオ) により血清中の ACE 活性 (IU/L) を測定し (笠原法⁹⁾)、また、同じく分離した血清から、自動分析用試薬 (LDH-TR, 和光純薬) を用いて LDH を測定し、LDH アイソザイムの一つである LDH₃ 分画をセルロースアセテート膜電気泳動法¹⁰⁾ により測定した。採血は hilar stripping 終了時と再灌流 120 分後に右主肺動脈を閉塞した状態で行った。

2・3 病理組織学的検索

再灌流後 120 分のデータをすべて測定した後、肺実質を辺縁部で切離し、10%ホルマリンで固定した。これをパラフィン包埋後、H-E 染色を行い、鏡検した。

2・4 統計処理

測定値はすべて平均値 ± 標準偏差で示した。経時的变化における有意差の検定は Student's t-test (paired) を用い、同時期の各群間の測定値の比較には Anova's test (unpaired) を用いて危険率 5% 以下を有意差ありとした。

3 結果

各成績の図示している pre 値とは、hilar stripping のみで、温阻血施行前の右主肺動脈閉塞時の左肺の値であり、post 15 min, post 60 min, post 120 min はそれぞれ再灌流後 15 分、60 分および 120 分における右主肺動脈閉塞時の左肺の値である。

3・1 動脈血ガス分析

動脈血酸素分圧 (PaO_2) は、右肺動脈閉塞により、A 群では pre 値 612.4 ± 45.1 mmHg に対し、再灌流後 15 分より有意 ($p < 0.01$) に低下し始め、再灌流 60 分値 492.1 ± 99.6 mmHg、120 分値 427.1 ± 62.4

mmHg と、ともに有意 ($p < 0.01$) な低下がみられた。B 群も pre 値 623.25 ± 32.3 mmHg に対し再灌流 15 分値 600.3 ± 25.1 mmHg, 120 分値 569.3 ± 23.6 mmHg と有意 ($p < 0.01$) な低下がみられたが、両群を比較すると再灌流後 60 分より有意 ($p < 0.05$) に A

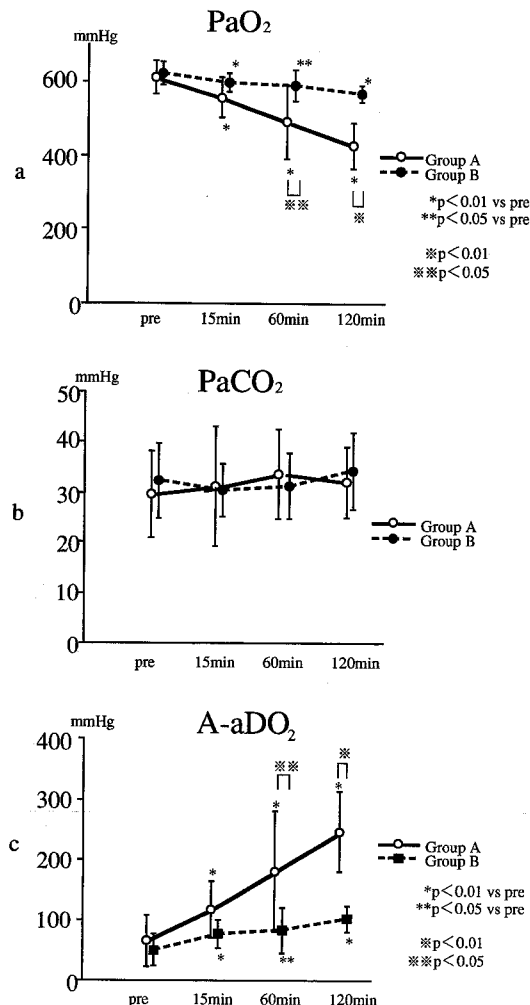


Fig. 4 a. Arterial oxygen tension (PaO₂) versus reperfusion time after warm ischemia. Note the significantly higher values of PaO₂ in the Nicorandil group than in the control group at 60 and 120 min after reperfusion. b. Arterial carbon dioxide tension (PaCO₂) versus reperfusion time after warm ischemia. No significant differences were noted between groups at any time. c. Alveolar arterial difference of oxygen tension (A-aDO₂) versus reperfusion time after warm ischemia. Note the significantly higher values of A-aDO₂ in the control group than in the Nicorandil group at 60 and 120 min after reperfusion.

群の方が低値を示した。(Fig. 4-a)

動脈血炭酸ガス分圧 (PaCO₂) は、右肺動脈閉塞により、A 群は pre 値 29.6 ± 8.7 mmHg から再灌流後 120 分で 32.0 ± 7.1 mmHg に上昇し、B 群は pre 値 $33.0 \pm$ mmHg より再灌流後 120 分で 34.3 ± 7.7 mmHg に上昇したが有意差はなかった。また、両群間にも有意差はみられなかった (Fig. 4-b)

肺泡気-動脈血酸素分圧較差 (A-aDO₂) の pre 値は A 群 65.8 ± 43.3 mmHg, B 群 50.9 ± 27.4 mmHg と両群間に有意差は認められなかった。再灌流後 15 分より両群ともに有意 ($p < 0.01$) な上昇を示し、120 分では A 群 248.2 ± 66.3 mmHg, B 群 103.5 ± 21.9 mmHg と pre 値に比べ、有意 ($p < 0.01$) に上昇したが、再灌流 60 分より A 群は B 群に対して有意 ($p < 0.01$) な上昇を示した。(Fig. 4-c)

3.2 平均大動脈圧

平均大動脈圧 (AOP) は、右肺動脈閉塞により、A 群では pre 値 141.5 ± 39.0 mmHg に対し再灌流後 15 分で 117.0 ± 32.4 mmHg, 120 分で 108.0 ± 27.6 mmHg と有意 ($p < 0.05$) の低下がみられた。B 群においても pre 値 135.0 ± 47.3 mmHg に対し再灌流後 15 分で 89.5 ± 22.7 mmHg ($p < 0.01$), 120 分で 78.0 ± 28.3 mmHg ($p < 0.05$) と有意な低下がみられたが両群間に有意差は認められなかった。(Fig. 5-a)

3.3 平均肺動脈圧

平均肺動脈圧 (mPAP) は、右肺動脈閉塞により A 群は pre 値 20.0 ± 5.4 mmHg, B 群では 22.7 ± 4.8 mmHg と有意差はみられなかったが、A 群では時間とともに次第に上昇し、再灌流後 60 分で 22.2 ± 5.2 mmHg と有意差 ($p < 0.01$) が認められた。これに対し、B 群では逆に再灌流後 15 分より 16.5 ± 3.0 mmHg と有意な ($p < 0.05$) 低下を示し、120 分においても 16.6 ± 4.91 mmHg と有意差 ($p < 0.05$) がみられた。また、両群間で再灌流後 120 分に有意差 ($p < 0.01$) が認められた。(Fig. 5-b)

3.4 心拍数

心拍出量を体重で除した値を心係数 (cardiac index) とした。心係数は、A 群で pre 値 104 ± 69 ml/min, B 群で 96 ± 43 ml/min と有意差はなかった。時間経過とともに A 群、B 群ともに低下したが、両群間に有意差はみられなかった。(Fig. 5-c)

3.5 肺血管外水分量

EVLW を体重で除し、1 kg あたりに換算した EVLW Index (EVLWI) を求め、温阻血前後で比較した。

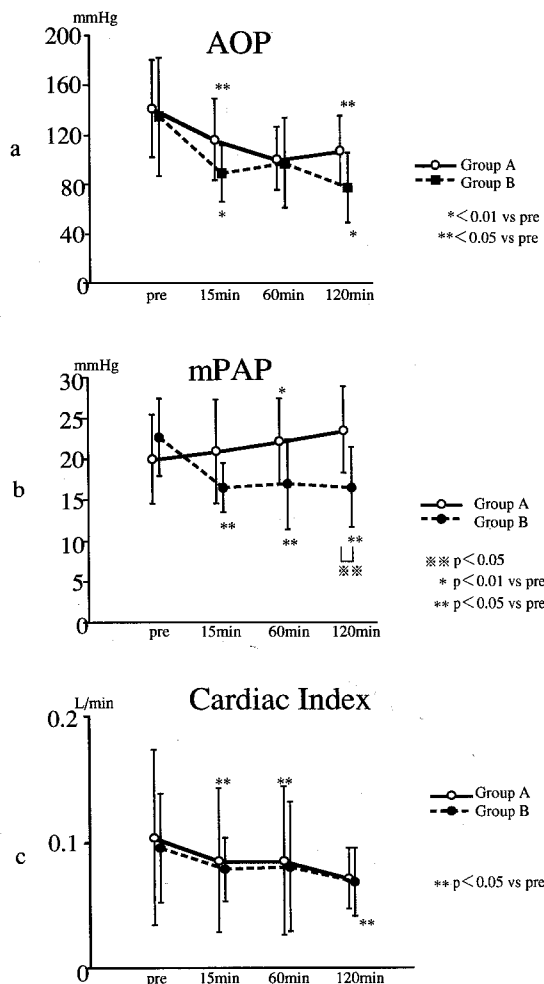


Fig. 5 a. Aortic pressure versus reperfusion time after warm ischemia. No significant differences were noted between groups at any time.
 b. Pulmonary artery pressure (PAP) versus reperfusion time after warm ischemia. Note the significantly lower values of PAP in the Nicorandil group at 120 min, while it increased gradually in the control group.
 c. Cardiac index versus reperfusion time after warm ischemia. No significant differences were noted between groups at any time.

pre 値は A 群が 6.5 ± 3.1 ml/kg, B 群は 5.6 ± 1.4 ml/kg であり有意差はなかったが, A 群は再灌流後 60 分, 120 分で有意 ($p < 0.05$) に上昇した。これに対し, B 群は, 再灌流後も上昇はみられず, 再灌流後 60 分, 120 分では A 群と比べて, 有意に低値を示した。(Fig. 6)

3・6 左肺小動脈抵抗

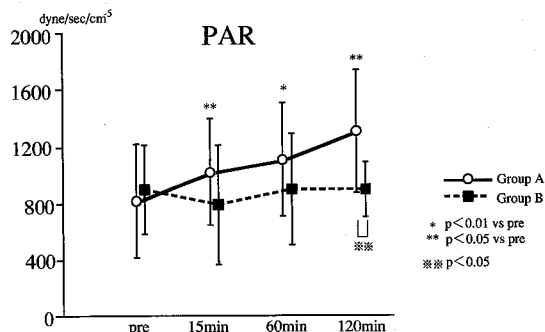


Fig. 6 Pulmonary arteriolar resistance (PAR) versus reperfusion time after warm ischemia. Note the significantly lower values of PAR in the Nicorandil group at 120 min, while it increased gradually in the control group.

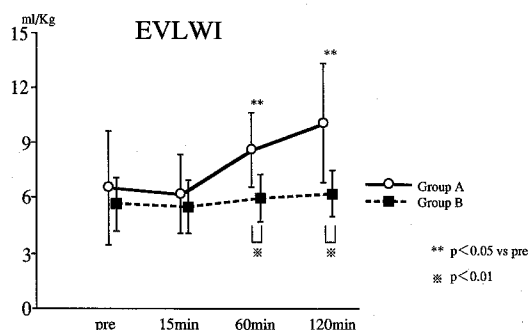


Fig. 7 Extravascular lung water (EVLW) versus reperfusion time after warm ischemia. Note the significantly lower values of EVLW in the Nicorandil group at 60 and 120 min.

肺小動脈抵抗 (pulmonary arteriolar resistance: PAR) を次式により算出した。

$$PAR = (nPAP - LAP) / CO \times 1332 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$$

PAR は, 右主肺動脈閉塞により, A 群では pre 値 807.7 ± 406.5 dyne \cdot sec \cdot cm $^{-5}$ に対し, 再灌流後 15 分より有意 ($p < 0.05$) に上昇し始め, 再灌流後 120 分では 1299.9 ± 434 dyne \cdot sec \cdot cm $^{-5}$ に上昇した。これに対し B 群は pre 値 892.9 ± 317.5 dyne \cdot sec \cdot cm $^{-5}$ に対し, 再灌流後 120 分でも 892.9 ± 195.2 dyne \cdot sec \cdot cm $^{-5}$ と上昇を示さなかった。また, 再灌流 120 分では A 群に比べ B 群は有意 ($p < 0.05$) に低値であった。(Fig. 7)

3・7 肺コンプライアンス

右主肺動脈, 右主気管支を遮断した状態で, 一回換気量を気道内圧で除したものを左肺の肺コンプライアンスとした。A 群では pre 値 35.0 ± 11.6 ml/mmH $_2$ O に対し再灌流後 120 分で 23.6 ± 9.6 ml/mmH $_2$ O と有

意 ($p < 0.01$) な低下を示した。また、B 群も pre 値は $36.4 \pm 9.7 \text{ ml/mmHg}$ と A 群と有意差はなかったが、時間とともに低下し、再灌流後 120 分では $30.1 \pm 10.3 \text{ ml/mmHg}$ と有意 ($p < 0.01$) な低下を示した。しか

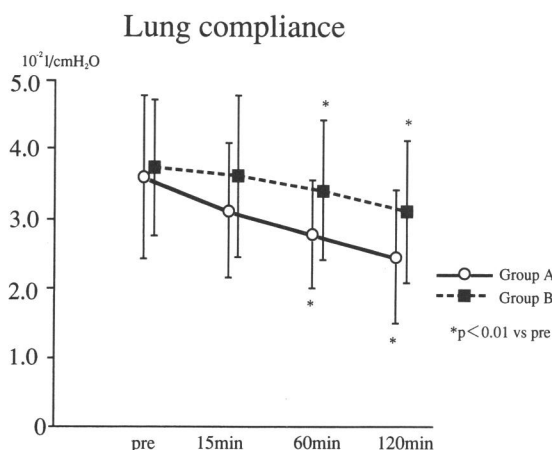


Fig. 8 lung compliance (LC) versus reperfusion time after warm ischemia. There were no significant differences between groups at any time.

し、両群間には有意差はみられなかった。(Fig. 8)

3・8 血清 ACE 濃度

肺血管内皮細胞傷害の指標として内皮細胞より生成、分泌される ACE 濃度を測定した。

A 群は pre 値 $5.98 \pm 2.32 \text{ IU/L}$ から再灌流後 120 分で $7.00 \pm 2.44 \text{ IU/L}$ へ増加し、B 群では $5.47 \pm 1.28 \text{ IU/L}$ より $5.35 \pm 1.26 \text{ IU/L}$ へ減少したが両群の間に有意差はみられなかった。(Fig. 9-a)

3・9 血清 LDH₃ 濃度

肺胞系細胞傷害の指標として LDH 分画の一つである LDH₃ 分画を測定した。

LDH₃ は A 群で pre 値 $43.0 \pm 8.3 \text{ IU/L}$ から再灌流後 120 分で $55.7 \pm 15.9 \text{ IU/L}$ へ増加、B 群では pre 値 $49.7 \pm 12.0 \text{ IU/L}$ から再灌流後 120 分で $34.6 \pm 4.9 \text{ IU/L}$ へ減少したが、両群間に有意差はみとめられなかった。(Fig. 9-b)

3・10 病理組織学的所見

A 群では 8 頭中 5 頭が、特に中下葉で肺胞構築が広範囲にわたって崩壊し、明らかな肺水腫もみられた。また、肺胞内へマクロファージや好中球を主体とした炎症細胞浸潤が認められ、sludging や鬱血も大部分にみられたが、上葉は比較的肺胞構築は保たれていた。(Fig. 10-a)

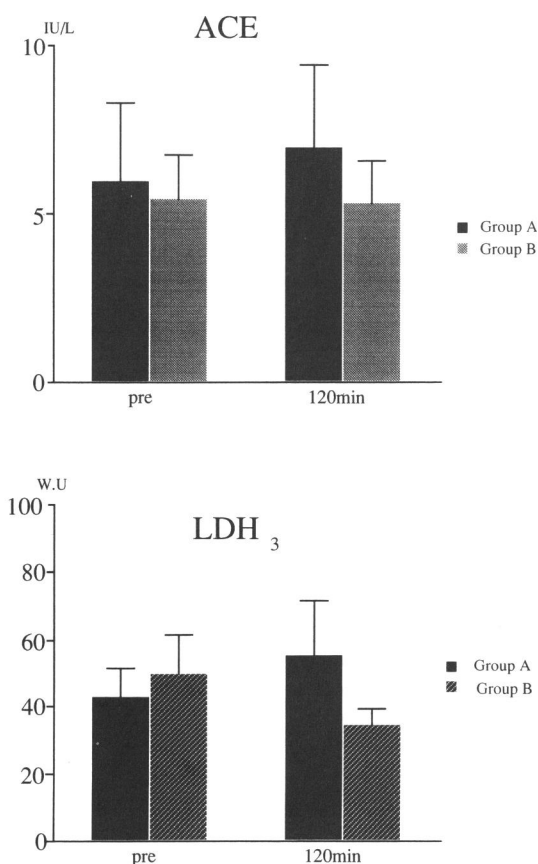


Fig. 9 a. Angiotensin-converting enzyme (ACE) concentration in left atrial blood. The concentration at 120 min seemed to be lower than it was before reperfusion in the Nicorandil group but no statistically significant differences were noted between group at any time.
b. LDH₃ concentration in left atrial blood. No statistically significant differences were noted between groups at any time.

B 群は、8 頭中 2 頭に肺胞構築の崩壊が多少みられたが組織学的肺水腫や出血および炎症細胞浸潤はなく、ほぼ正常肺に近い所見を呈した。(Fig. 10-b)

4 考 察

肺移植は、他に治療手段のない重症肺疾患に対する根本的治療法として、今日、欧米において広く行われるようになりつつある^{10,11)}が、1983 年、Cooper *et al.*¹²⁾ によって初めて長期生存例が報告されるまで、その成績は不良であった。すなわち、1980 年までに報告された肺移植臨床例 38 例のうち 10 例が早期に reim-

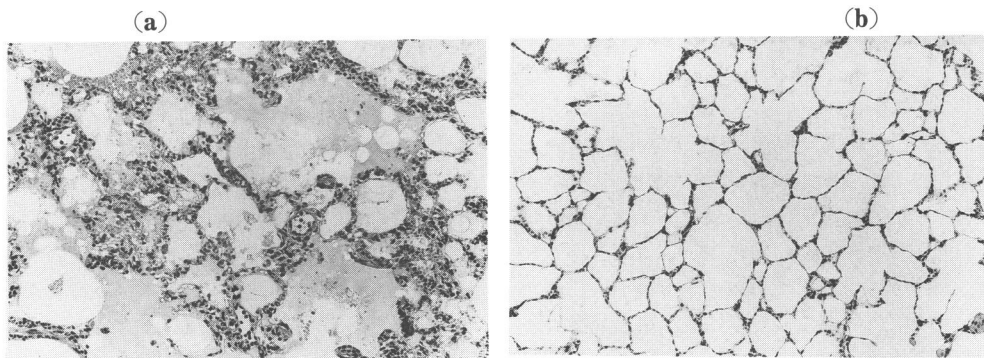


Fig. 10 Histological appearance of the lung (a) in the control group (group A) and (b) in the Nicorandil group (group B).

Postmortem histological examination of the lungs showed much greater extents of alveolar injury—edema, perivascular hemorrhage and an inflammatory response—in the control group.

Hematoxylin-Eosin. $\times 240$

plantation response と思われる呼吸不全により死亡している¹⁸⁾。この reimplantation response とは、“拒絶反応とは関係なく、移植後一過性に起こる肺機能低下”であり¹³⁾、この変化は移植後 48 時間以内に出現し、2~4 日後をピークとして次第に軽減する¹⁶⁾。しかし、呼吸を移植肺に依存しているレシピエントにとって、この数日間の機能低下は致命的であるため、reimplantation response は移植早期の最も大きな合併症の一つとされている。また、その臨床症状としては、酸素化能の低下、肺血管抵抗の上昇、コンプライアンスの低下、肺血管外水分量の増加、炎症反応細胞の浸潤などがみられ、実験的にも発熱、肺水腫、炎症細胞の滲出、肺血管の透過性の亢進などが報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾。

この reimplantation response の原因として、現在、1978 年に Forette *et al*¹⁷⁾ により提唱された再灌流障害が注目されているが、McCord¹⁹⁾ や Ratych *et al*²⁰⁾ は再灌流時にラジカルの一つである活性酸素が発生し、これが細胞膜の構成成分である不飽和脂肪酸を過酸化脂質に変え、細胞膜傷害を引き起こし、膜の透過性を亢進させ、肺水腫を招来させると述べており、ラジカル消去薬素を使って再灌流障害を抑制できたとの報告も多い²¹⁾²²⁾。

また、Cooper *et al*²³⁾ は細胞膜透過性の変化により引き起こる細胞内への大量のカルシウムイオンの流入、いわゆる“カルシウムパラドックス”を再灌流障害の原因としている。このカルシウムイオンの異常流入により虚血中は維持されていたミトコンドリアやリボゾーム等の細胞内小器官の構造が急速に壊れ、蛋白合成過程が乱れるばかりでなく、ミトコンドリアにカルシ

ウムイオンの過負荷が起こるために ATP 産生が低下し²⁴⁾、増加したカルシウムイオンが thromboxane, leukotriene 等を活性化し、肺血管抵抗と肺毛細管透過性を増加させる²⁵⁾。この肺血管抵抗の上昇は、虚血下の低酸素性肺血管攣縮と相俟って、再灌流後も組織への血流を不足させ、さらに低酸素状態を長くするという悪循環を生ずる。このカルシウムイオンの異常流入を防ぐ方法として、Hachida *et al*²⁶⁾ は、Ca antagonist の一つである Verapamil を再灌流前に投与することで、実験的に再灌流のカルシウムイオンの細胞内流入を抑制することにより、細胞膜傷害を抑制し、肺血管を拡張させることにより再灌流障害を軽減できたと述べている。

イオンチャンネルは膜を介するイオン移動の重要な経路である。パッチ・クランプ法の導入、分子生物学の発展などにより、興奮性組織での Na^+ チャンネル、興奮-収縮連関に関わる Ca^{2+} チャンネルが注目され、さまざまな研究がなされてきた。一方、 K^+ チャンネルは種類も多く、チャンネルに特異的に作用する物質がみられなかったが、ハチ毒の一種である Apamin がある種の K^+ チャンネルに結合しその機能を抑制することが報告²⁷⁾ されてから、チャンネルの同定が容易となってきた。このうち、ATP sensitive K^+ channel は 1983 年に Noma²⁸⁾ および Trube *et al*²⁹⁾ により報告された K^+ チャンネルであり、細胞内 ATP 濃度が 1~2 mM 以下になると活性化されるチャンネルである。1985 年、英国で ATP sensitive K^+ channel を開口する薬剤として、BRL 34915 (Cromakarin) が開発され、血管平滑筋の膜電位の過分極と、 K^+ の流血促進をもたらし、こ

これらの作用が血管拡張効果と相関することから, “K⁺ channel opener (KCO)” の呼称が用いられた³⁰⁾. Cromakarin の他にも, Nicorandil, Pinacidil³¹⁾³²⁾ が KCO としての作用を持っており, K⁺ チャンネルを開口させることにより膜電位の過分極を介し, Ca²⁺ 流入を抑制, 細胞内 Ca²⁺ 濃度の低下から血管平滑筋の弛緩をもたらすことが知られている. 特に Nicorandil は, わが国で開発された狭心症治療薬であり, KCO としての作用と, nitrate としての作用を合わせ持つ. これまでに冠血管に対して著名な冠血管拡張作用と冠攣縮抑制作用を持つこと³³⁾, また, 虚血心筋に対して心筋保護的に働くこと³⁴⁾ 等, 心臓血管に対しての研究は散見されるが, 肺に関しての作用はほとんど知られていない.

そこで今回, 著者は, Nicorandil を温阻血前に投与することにより再灌流による細胞膜傷害予防と vasoconstriction 抑制の可能性について実験的に検討した. 肺移植モデルとして 90 分間の温阻血を用いたが, これは移植による技術的, 手技的要因を取り除くためであり, 左主肺動脈および左主気管支の周囲を結合組織を含めて完全に剝離することにより, 神経系の影響は無視することができる.

Nicorandil を投与した B 群では投与しなかった A 群に比べ再灌流後 15 分に大動脈圧の有意な低下がみられたが, 心係数は有意差が認められなかった. Nicorandil は血管選択性が高い血管拡張薬であり, 0.1 mg/kg~2 mg/kg の濃度では心筋抑制作用は少ない³⁵⁾ といわれており, 本実験においても心筋抑制作用はみられなかった. また, 肺循環動態においては, 肺血管抵抗, 肺動脈圧ともに有意にその上昇を抑制した. 松本ら³⁶⁾ は KCO である Lemakalim と Panacidil により低酸素性肺血管収縮を抑制できたと報告しているが, Nicorandil も肺血管平滑筋細胞に対して弛緩作用を持っていると考えられる. また今回, 肺血管透過性の指標として熱-ナトリウム法による肺血管外水分量を測定した. これは直接法である摘出肺乾燥重量法に比し, 反復測定が可能であり, また直接法による実測値とよく一致することからである. 今回のように左肺のみの EVLW を測定した報告³⁷⁾ は少ないが, 川原田³⁸⁾ は左肺の EVLW と両肺の EVLW の相関関係を調べ, 両者がよく相関すると報告している. 本実験における EVLW の変化をみると, A 群では温阻血前の値に比べて再灌流後 60 分より EVLW は増加し始めるが, B 群では温阻血前とほとんど増加が認められない. また, 動脈血ガス分析でも PaO₂ は A 群に比べて B 群は有意に良好な結果を示した. Hachida *et al*²⁷⁾ は Verapamil と血管拡張剤

である Hydralazine の肺保存における効果の違いについて実験し, 血管拡張作用のみでは肺毛細血管の傷害と酸素化能の低下は防止できなかったと報告している. Nicorandil は肺の血管平滑筋細胞を弛緩させるのみでなく, 血管内皮細胞傷害をも抑制していると考えられる. 血中における肺血管内皮細胞傷害の指標として測定した ACE 活性は本実験では両群とも有意な増加は示さなかった. ACE は肺血管内皮細胞傷害の早期に増加するといわれる³⁹⁾ が, 肺の血液灌流量に大きく左右されるとの報告⁴⁰⁾ がある. おそらく A 群では虚血により肺血管が収縮し, 再灌流後の左肺への血流が減少したために ACE が十分に血中に遊離されなかったためと思われる. 病理組織所見においては A 群に肺水腫と炎症細胞の浸潤がみられ, B 群ではほぼ正常な肺胞構築が保たれていることから, Nicorandil が血管内皮細胞傷害を抑制できていると考えられる. しかし, 血管内皮細胞は過分極により逆に Ca²⁺ が流入するとの報告があり⁴¹⁾, KCO としての作用のみでは説明できない. この点に関して安仁屋ら⁴²⁾ は Nicorandil のニトロ基が肝ミクロソームの glutathione S-transferase により一酸化窒素 (NO) に最終的に変化し, この NO が血管内皮由来血管弛緩物質 (EDRF) として, 血小板凝集抑制作用, 好中球凝集阻害作用, O₂ の消去作用を持つと報告しており, 血管内皮細胞については EDRF として働いている可能性が考えられる.

また, 肺コンプライアンスおよび肺胞系細胞障害の指標として測定した LDH₃ は両群間に有意差は認められなかった. しかし, A 群に比して B 群ではコンプライアンスの低下が抑制される傾向がみられ, LDH₃ も B 群においてはかえって低下する傾向が認められた. 病理組織所見でも B 群は著明に組織学的肺水腫が抑制されており, 肺胞上皮細胞の傷害も Nicorandil が抑制している可能性が示唆される.

5 結 論

左肺温阻血後の再灌流障害に対し, Nicorandil の効果を動脈血ガス, 肺血管外水分量, 肺循環動態および病理組織所見から検討し, 以下の結論を得た.

1. 再灌流後の PaO₂ は, A 群 (非投与群), B 群 (投与群) ともに経時的に低下したが A 群に比し B 群は有意 ($p < 0.05$) に高値であった.
2. 熱-ナトリウム二重指示薬希釈法により求めた EVLW は, B 群は A 群に比し, 有意 ($p < 0.01$) にその増加率が低く保たれていた.
3. 左肺血管抵抗は, A 群は再灌流後急速な上昇を示

したが、B群はA群に比べ有意($p < 0.01$)に低値のままであった。

4. 病理組織所見では、B群はほぼ正常の肺胞構造を保っていたが、A群では組織学的肺水腫や肺胞構造の崩壊、炎症細胞の浸潤を認めた。
5. 以上より、reimplantation response に対して Nicorandil の再灌流前投与は有効であると考えられ、その作用機序はKCOとして肺血管抵抗の上昇を抑制する他に、肺血管内皮細胞にはEDRFとして働き肺血管内皮細胞の傷害を予防していると考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜った小松作蔵教授、ならびに、ご助言、ご協力いただいた草鳥勝之講師はじめ教室各位に感謝いたします。また病理所見につきご教示いただいた本学病理学第1講座松浦晃洋講師はじめ同教室各位に深謝いたします。

文 献

1. Tronto Lung Transplant Group. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *New Engl J Med* 1986, 314: 1140-1145.
2. Siegelman SS, Sinha SBP, Veith FJ. Pulmonary reimplantation response. *Ann Surg* 1973, 177: 30-36.
3. Prop J, Ehrie MG, Crapo JD, Nieuwenhuis P, Wildevuur CRH. Reimplantation response in iso-grafted rat lungs. Analysis of casual factors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984, 87: 702-711.
4. 大保英文, 山下長司郎. 肺移植における PGI_2 アナログの効果に関する実験的研究. *日胸外会誌* 1990, 38: 57-65.
5. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Engl J Med* 1985, 312: 159-163.
6. Flaherty JT, Weisfeldt ML. Reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 1988, 5: 409-419.
7. Furukawa K, Itoh T, Kajiwarra M, Kitamura K, Suzuki H, Itoh Y, Kuriyama H. Vasodilating actions of 2-nicotinamidoethyl nitrate on porcine and guinea-pig coronary arteries. *J Pharmacol Exp Therap* 1981, 218, 248-259.
8. 石部祐一, 末包慶太, 中村正人, 泉 貴文, 某田高史, 佐藤公彦, 大井元晴, 佐川弥之助. 熱とナトリウムを用いる二重指示薬希釈法による肺血管外水分量測定の実験的研究. *麻酔* 1986, 35: 373-378.
9. Kasahara Y, Ashihara Y. Colorimetry of angiotensin- I converting enzyme activity in serum. *Clin Chem* 1981, 27, 1922.
10. Tsukada T. 乳酸脱水素酵素. *臨床検査* 1988, 32: 1362-1369.
11. The Tronto Lung Transplant Group. Experience with single-lung transplantation for pulmonary fibrosis. *JAMA* 1988, 259: 2258-2262.
12. Cooper JD, Perrson FG, Patterson GA, Todd TRJ, Ginsberg RJ, Goldberg M, DeMajo WAP. Technique of successful lung transplantation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987, 93: 173-181.
13. 伊達洋至. 肺移植後のreimplantation responseの実験的研究. *日胸外会誌* 1989, 37: 510-521.
14. Bishop MJ, chi EY, Cheney FW. Lung reperfusion in dogs causes bilateral lung injury. *J Appl Physiol* 1987, 63: 942-950.
15. Barie PS, Malik AB. Effect of pulmonary arterial occlusion on lung fluid and protein exchange. *J Appl Physiol* 1982, 53: 543-548.
16. Herman SJ, Rappaport DC, Weisbrod GL, Olscamp GC, Patterson GA, Cooper JD. Single-lung transplantation: Imaging features. *Radiology* 1989, 170: 89-93.
17. Hearse DJ, Braimbridge MV, Jynge P. Protection of the ischemic myocardium. *Cardioplegia* NewYork Raven press 1981, 369-374.
18. 藤村重文, 近藤 丘, 半田政志, 岡部 健, 中田由, 肺移植. *呼吸* 1986, 5: 832-840.
19. McCord JM. Oxygen-derived radicals a link between reperfusion injury and inflammation. *Federation Proc* 1987, 46: 2402-2406.
20. Ratych RE, Chuknyiska RS, Bulkey GB. The primary localization of free radical generation after anoxia/reoxygenation in isolated endothelial cells. *Surgery* 1987, 102: 122-131.
21. 中田昌男. 肺移植後のreimplantation responseに対するradical scavengerの効果. *移植* 1991, 26: 62-71.
22. 青江 基. 肺移植における虚血再灌流障害とSOD活性の変化についての実験的研究. *日胸外会誌* 1991, 39: 1731-1741.
23. Cooper HK, Zalewski T, Hossman KA. The effect of ischemia and recirculation on protein synthesis in the rat brain. *J Neurochem* 1977, 28: 929-934.
24. Jennings RB, Ganote C. Mitochondrial structure and function in acute myocardial ischemic injury. *Circ Res* 1976, 38 (Suppl I): 80-90.
25. Hoffner JE, McMurtry IF, Repine JE. Platelet activating factor stimulates platelets to produce

- pulmonary hypertension and edematous lung injury in isolated perfused rabbit lung. Clin Res 1982, 30: 430A.
26. Hachida M, Morton DL. The protection of ischemic lung with verapamil and hydralazine. J Thorac Cardiovasc Surg 1988, 95: 178-183.
27. Habermann E. Apamin. Pharmacol ther 1984, 25: 255-270.
28. Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. Nature 1983, 305: 147-148.
29. Trube G, Hescheler J. Inward-rectifying channels in isolated patches of the heart cell membrane: ATP dependence and comparison with cell-attached patches. Pflugers Arch 1984, 401: 178.
30. Hamilton TC, Weir SW, Weston AH. Comparison of the effects of BRL34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. Br J Pharmacol 1986, 88: 875.
31. Campbell W, Martin CC, David RH, Susan MC, Thomas CH. Comparative effects of Cromakalim, pinacidil, and Nicorandil. Eur J Pharmacol 1988, 152: 331-339.
32. Masayasu H, Zheng F. Activation of ATP-sensitive outward K⁺ current by Nicorandil (2-nicotinamidoethyl nitrate) in isolated ventricular myocytes. J Pharmacol Exp Therap 1989, 250: 278-285.
33. 内田康美, 中村文隆, 東丸貴信. レーザーによる冠動脈攣縮に対する Nicorandil の効果. Therap Res 1989, 10: 91-95.
34. John AA, Icilio C, Garrett G. Nicorandil attenuates myocardial dysfunction associated with transient ischemia by opening ATP-dependent potassium channels. J Cardiovasc Pharmacol 1992, 20: 765-771.
35. Yasuyuki S, Michitaka A, Hiroyuki N, Yasuhiro O, Eiichi H, Kazushige S. The hypotensive mechanisms of the new antianginal drug, N-(2-hydroxyethyl) nicotiamide nitrate (SG-75) in beagle dogs. Japan J Pharmacol 1981, 31: 921-929.
36. 松本博之, 中野 均, 長内 忍, 秋葉裕二, 飛世克, 小野寺壮吉. 低酸素性肺血管収縮に対する K_vチャンネルオープナーの効果. 日胸疾会誌 1992, 30: 1488-1495.
37. 佐久間勉, 磯上勝彦, 舟田 仁, 斉藤秀行, 小野貞文, 相良勇三, 石本幹人, 大貫恭正, 小池加保児, 大久田和弘, 新田澄郎, 仲田 祐. 肺全摘術における肺血管外水分量. 日胸外会誌 1986, 34: 1493.
38. 川原田修義. 肺移植後の再灌流障害に対する PAF antagonist の効果に関する実験的研究. 札幌医誌 1992, 61: 1-13.
39. Hollinger MA, Gili SN, Patwell S. *et al*: Effect of acute lung injury on angiotensin converting enzyme in serum, lung lavage and effusate. Am Rev Respir Dis 1980, 121: 373.
40. Fanburg BL, Glazier JB. Conversion of angiotensin I to angiotensin II in the isolated perfused dog lung. J Appl Physiol 1973, 35: 325-331.
41. Wolfgang FG, Walter RK, Klaus G. Cyclic AMP enhances agonist-induced Ca²⁺ entry into endothelial cells by activation of potassium channels and membrane hyperpolarization. Biochem J 1993, 291: 263-267.
42. 安仁屋洋子, 内藤 鑑, 坂梨又郎. Nicorandil の活性酸素消去作用の検討. Ther Res 1992, 13: 121-122.

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学医学部外科学第2講座 松崎貴史